

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Aphanomyces* spp. SAPROTRÓFICOS EM ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA*

Débora Rodrigues da Silva COLOMBO^{1,2}, Ana Lucia de JESUS^{2,3}, Marcela Castilho BORO^{2,4},
Poliana de Oliveira VENTURA^{2,5}, Sarah Cristina de Oliveira da PAIXÃO^{2,3}, Carmen Lidia
Amorim PIRES-ZOTTARELLI^{2,6}

¹ Aluna de pós-graduação do Instituto de Pesca (Trabalho relacionado as atividades desenvolvidas como TTTIII no Instituto de Botânica - IBt)

² Endereço/Address: Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Micologia, Av. Miguel Stéfano 3687, CEP 04301-912, São Paulo-SP-Brazil. E-mail: deborarodrigues.bio@gmail.com

³ Aluna de pós-graduação do IBt

⁴ Assistente técnica do IBt, Dra. em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente (IBt)

⁵ Bolsista TTTIII (IBt)

⁶ Pesquisador do IBt

*Apoio financeiro: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos n° 2016/11146-4, 2017/12481-4, 2018/05602-2 e Processo N° 2016 / 18787-5. CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), processo N° 304091 / 2018-9.

Palavras-chave: Diversidade, oomiceto, truticultura

INTRODUÇÃO

O gênero *Aphanomyces* (Oomycota, Straminipila) possui representantes saprotróficos, bem como parasitas de animais e plantas, cujas espécies estão presentes nos mais diversos ecossistemas aquáticos e terrestres. Muitas dessas espécies atuam como patógenas oportunistas, ocorrendo normalmente em diferentes hospedeiros (JOHNSON *et al.*, 2002). Análise filogenética da região ITS do rDNA de 12 espécies do gênero, realizada por DIÉGUEZ-UIBEONDO *et al.* (2009), mostrou as mesmas distribuídas em três diferentes linhagens: parasitas de animais, de plantas, bem como saprotróficas ou parasitas oportunistas, no entanto, essas análises são parciais, pois não contemplam as 43 espécies válidas e descritas para o gênero (INDEX FUNGORUM, 2019), devido a inexistência de sequências gênicas.

O objetivo deste estudo foi contribuir com o conhecimento da ocorrência e distribuição das espécies do referido gênero no país.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo, bem como de água, sedimento superficial e folhas submersas de corpos d'água foram coletadas de áreas de Mata Atlântica do Mosaico de Unidades de

Conservação Juréia-Itatins, estado de São Paulo, de agosto/2016 a outubro/2017. Também foi analisada amostra de água coletada em março/2017 do sistema de cultivo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD), Campos do Jordão, SP. Alíquotas das amostras foram submetidas à técnica de iscagem múltipla (MILANEZ, 1989) por cinco dias a 22° C. Após esse período, representantes do gênero *Aphanomyces* foram isolados em meio de cultura MP₅ (maltose-peptona-ágar) e identificados por meio de análise morfológica (estruturas assexuadas e sexuadas) utilizando-se literatura específica, bem como molecular da região ITS do rDNA. Os espécimes identificados foram preservados e incorporados na Coleção de Culturas de Algas, Fungos e Cianobactérias do Instituto de Botânica (CCIBt).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 180 amostras coletadas no “Mosaico de Unidades de Conservação Juréia-Itatins”, nós isolamos 39 espécimes de *Aphanomyces*, os quais são pertencentes às espécies *Aphanomyces helicoides* Minden (5), *A. raphani* J.B. Kendr. (1) e *A. stellatus* de Bary (10), bem como dois isolados de uma espécie nova (*Aphanomyces* sp. nov.), a qual também foi isolada da amostra de água da truticultura. Todos os espécimes foram isolados como saprotróficos em ecdise de cobra, palha de milho e/ou epiderme de cebola, utilizadas como iscas. *Aphanomyces helicoides* e *A. stellatus* são espécies normalmente citadas no país como saprotróficas em ecdise de cobra (STECIOW *et al.*, 2012), no entanto, possuem relatos em nível mundial como parasitas de ovos, bem como de peixes (TAKUMA *et al.*, 2011; CZECHUGA *et al.*, 2015). *Aphanomyces raphani* é um conhecido parasita de plantas (JOHNSON *et al.*, 2002), tendo sido primeiramente citado no Brasil em rabanete (MENDES *et al.*, 1998).

As análises filogenéticas da região ITS do rDNA mostraram o posicionamento das 19 espécies, com sequências disponíveis no GenBank, dentro do clado *Aphanomyces*. *Aphanomyces helicoides* se posicionou dentro da linhagem das espécies saprotróficas ou parasitas oportunistas, enquanto *A. raphani* com as parasitas em plantas, concordando com DIÉGUEZ-URIBEONDO *et al.* (2009), embora ambas tenham sido isoladas como saprotróficas nesse estudo. *Aphanomyces stellatus* ficou em “clado” independente, no entanto, sua posição em nossas análises demonstrou estar mais relacionada com as espécies saprotróficas ou parasitas oportunistas e parasitas de plantas. A nova espécie, *Aphanomyces* sp. nov., se agrupou com *A. sinensis*, espécie descrita como parasita de tartaruga no Japão

(TAKUMA *et al.*, 2011), com alto suporte. Essas duas últimas espécies não se agruparam dentro das referidas linhagens.

Nossos resultados demonstram que ainda é impossível discutir concretamente o posicionamento das espécies de *Aphanomyces* dentro das linhagens propostas por DIÉGUEZ-URIBEONDO *et al.* (2009), pois poucas possuem sequências disponíveis em bancos de dados gênicos, entretanto, confirma a natureza oportunista das espécies, como já relatado por vários autores (ROYO *et al.*, 2004; SAYLOR *et al.*, 2010; CZEZUGA *et al.*, 2015).

REFERÊNCIAS

- CZEZUGA, B.; CZEZUGA-SEMENIUK, E.; SEMENIUK- GRELL, A. 2015 Ecological diversity and economical importance of species from *Aphanomyces* genus. *African Journal of Agricultural Research*, 10(48): 4356-4363.
- DIÉGUEZ-URIBEONDO, J.; GARCIA, M.A.; CERENIUS, L.; KOZÚBIKOVÁ, E.; BALLESTEROS, I.; WINDELS, C.; WEILAND, J.; KATOR, H.; SORDERHALL, K.; MARTÍN, M.P. 2009 Phylogenetic relationships among plant and animal parasites, and saprotrophs in *Aphanomyces* (oomycetes). *Fungal Genetics and Biology*, 46: 365-376.
- INDEX FUNGORUM. 2019. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/>. Acesso: 20 dez. 2018.
- JOHNSON, T. W.; SEYMOUR, R. L.; PADGET, D. E. 2002 Biology and systematic of the Saprolegniaceae. Disponível em: <<http://dl.uncw.edu/digilib/biology/fungi/taxonomy%20and%20systematics/padgett%20book/>>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- MENDES, M.A.S.; SILVA, V.L.; DIANESE, J.C.; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F. 1998 *Fungos em plantas no Brasil*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen. p. 569.
- MILANEZ, A.I. 1989 Fungos de águas continentais. In: FIDALGO, O. e BONONI, V.L. *Técnica de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânico. p. 17-20.
- ROYO, F.; ANDERSSON, G.; BANGYEEKHUN, E.; MÚZQUIZ, J.L.; SÖDERHÄLL, K.; CERENIUS, L. 2004 Physiological and genetic characterization of some new *Aphanomyces* strain isolated from freshwater crayfish. *Veterinary Microbiology*, 104: 103-112.
- SAYLOR, R.K.; MILLER, D.L.; VANDERSEA, M.W.; BEVELHIMER, M.S.; SCHOFIELD, P.J.; BENNETT, W.A. 2010 Epizootic ulcerative syndrome caused by *Aphanomyces invadans* in

captive bullseye snakehead *Channa marulius* collected from south Florida, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 88: 169–175.

STECIOW, M.M.; MILANEZ, A.I.; PIRES-ZOTTARRELLI, C.L.A.; MARANO, A.V.; LETCHER, P.M.; VÉLEZ, C.G. 2012 Zoosporic true fungi, heterotrophic straminipiles and plasmodiophorids: status of knowledge in South America. *Darwiniana*, San Isidro, 50: 25–32.

TAKUMA, D.; SANO, A.; WADA, S.; KURATA, O.; HATAI, K. 2011 *Aphanomyces sinensis* sp. nov., isolated from juvenile soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*, in Japan. *Mycoscience*, 52: 119–131.